Laboratorio di medicina legale della R. Università di Siena
diretto dal prof. S. Ottolenghi

B 5 SP

AZIONE DEI BATTERII SUGLI ALCALOIDI

(NOTA SECONDA)

AZIONE DI ALCUNI SAPROFITI SULLA TOSSICITÀ DELLA STRICNINA

PEL

Prof. S. OTTOLENGHI

(Estratto dalla *Riforma Medica*, nn. 222-223, settembre 1895)

NAPOLI
TIPOGRAFIA DELLA « RIFORMA MEDICA »
Salita Pontecorvo, 60

1895

Laboratorio di medicina legale della R. Università di Siena
diretto dal prof. S. Ottolenghi

AZIONE DEI BATTERII SUGLI ALCALOIDI

(NOTA SECONDA)

AZIONE DI ALCUNI SAPROFITI SULLA TOSSICITÀ DELLA STRICNINA

PEL

Prof. S. OTTOLENGHI

(Estratto dalla *Riforma Medica,* nn. 222-223, settembre 1895)

NAPOLI
TIPOGRAFIA DELLA « RIFORMA MEDICA »
Salita Pontecorvo, 60

1895

Azione dei batterî sugli alcaloidi. Nota seconda (1). Azione di alcuni saprofiti sulla tossicità della stricnina.

I.

L' azione dei batterî sugli alcaloidi fu, dice Kobert (2), quasi completamente trascurata dai batteriologi. Mentre furono fatti tanti studî sull' azione degli agenti fisici e chimici sui veleni batterici e sull'azione dei microrganismi e delle loro tossine sulle fermentazioni e sulle reazioni più note: produzione di glucosio, trasformazione dell' amigdalina, ecc. (Kitasato, Tizzoni, Fermi e Pernossi, Fermi e Montesano, ecc.) (3), poco o nulla si è fatto sull' azione dei batterî e loro prodotti sugli alcaloidi vegetali.

---

(1) S. Ottolenghi.—Azione dei batterî sugli alcaloidi. Nota prima: Azione di alcuni saprofiti sulla tossicità dell'atropina. (Processi verbali della R. Accademia dei Fisio-critici in Siena. Adunanza 28 giugno, p. 85, 1895).

(2) Kobert.—Lehrbuch der Intoxicationen, p. 110, 1893.

(3) Fermi e Pernossi. — Ueber das Tetanus-gift. «Centralb. f. Bacteriol., 2 märz 1894».

— Fermi e Montesano. — Ueber die Dekomposition des Amygdalins durch Microrganismen «Centralbl. f. Bakteriol., 19 märz 1894».

D' altra parte interessa molto la medicina legale, a fine di ben precisare la resistenza degli alcaloidi alla putrefazione, conoscere il modo di comportarsi degli alcaloidi in presenza dei batterî che si trovano nel cadavere, in presenza delle loro tossine e delle altre sostanze velenose prodotte con la disorganizzazione dei tessuti per opera degli stessi batterî. Interessa ancora il medico legale conoscere l'azione che sugli stessi alcaloidi esercitano i batterî che possono trovarsi nell' organismo vivente, per ben valutare gli effetti che essi ed i loro prodotti possono esercitare sulla fenomenologia degli avvelenamenti.

Solo uno studio sistematico dell'azione dei principali batterî sui più importanti alcaloidi può guidare su solide basi alla risoluzione di quesiti così importanti per la medicina forense, alla conoscenza di principî generali sui quali fondarsi nei giudizî, nella troppo varia casuistica.

Malgrado i risultati negativi a cui sono giunti Russo-Giliberti e Dotto (1889) (1), Pellacani (1892) (2) e recentissimamente Ipsen (1895) (3), vedendo ogni giorno meglio dimostrata l'azione dei batterî e dei loro veleni nei mezzi in cui si trovano, parendomi strano che i batterî dovessero rimanere indifferenti innanzi agli alcaloidi, ho intrapreso una serie di esperienze per

---

(1) Russo-Giliberti e Dotto. — Sulla resistenza dei vegetali alla putrefazione « Sicilia Medica, 1889. »

(2) Pellacani. — Il consumo di alcuni alcaloidi nei tessuti durante la vita « Rassegna di scienze mediche, 1892. »

(3) Ipsen. — Zur Differentialdiagnose von Pflanzen alkaloide und Bakteriengiften « Vierteljahrschrift. f. gericht. Medicin, Juli 1895 ».

precisare bene l' azione di alcuni saprofiti sui principali alcaloidi.

Mi sono proposto di studiare l'azione che esercitano i saprofiti sugli alcaloidi, facendo culture di alcuni di questi batterî in brodo avvelenato con una data quantità di alcaloide ed esaminando quasi giorno per giorno la tossicità di dette culture.

In una mia prima nota, che ho comunicata il 28 giugno scorso alla R. Accademia dei fisio-critici di Siena, ho esposto gli studî fatti sull'atropina; ora qui riferisco sui risultati a cui giunsi con la stricnina, che è certo l'alcaloide il più resistente alla putrefazione (Dragendorff, Pellacani, Filippi, Ipsen, ecc).

Trovata la soluzione più diluita di alcaloide in brodo sterilizzato senza peptone (1), che era capace in date quantità di produrre i primi sintomi di intossicazione nella rana, distribuivo la soluzione in palloncini nella stessa quantità (20 cc. nelle esperienze della 1ª serie, 50 cc. in quelle della 2ª) ed innestatovi in ogni recipiente un saprofita, tenni tali culture in termostato a 35°. La quantità di liquido che si consumava per evaporazione veniva riparata con brodo sterilizzato volta per volta.

Ho sinora sperimentato l' azione dei seguenti batterî, che ho isolato dal cadavere umano in casi di morte traumatica: *B. liquefaciens putridus*, *B. subtilis*, *B. mesentericus vulgatus*.

La soluzione di stricnina in brodo sterilizzato senza peptone al 0,004 °/₀ era capace di dare tetano iniettata nella quantità di grm. 0,035 per

(1) In seguito riconobbi che il peptone era indifferente.

ogni grm. di rana: la reazione tetanica mi rivelava per ciò in 1 grm. di rana la presenza di grammi 0,0000014 di solfato di stricnina. Si trattava, quindi, di reazione di poco meno delicata della reazione chimica. Iniettando più o meno di tale soluzione potei provocare, a volontà, parecchi gradi di avvelenamento.

Fondandomi sui dati ottenuti con le iniezioni di stricnina sciolta in brodo sterilizzato, mi accinsi a studiare se, e come, modificava la tossicità della stricnina contenuta nelle culture dei microrganismi a diverse epoche dall' innesto.

Secondo le esigenze della prova fisiologica negli avvelenamenti, procedevo così nei miei esperimenti: una rana tenevo in osservazione senza adoperarla, in altra facevo iniezione di cultura del batterio in esame senza veleno, in altra iniettavo una data quantità della soluzione e di alcaloide in brodo sterilizzato, nella quarta rana infine iniettavo eguale quantità di cultura di batterio in brodo contenente analoga quantità di alcaloide.

Le iniezioni venivano fatte sotto la pelle del dorso.

Le iniezioni di culture virulente in brodo e gelatina dei singoli batterî, senza alcaloide, produssero sintomi di depressione sensitiva e motoria, abbattimento generale, da non confondersi affatto coi sintomi dell' avvelenamento tetanico.

II. Esperienze.

I. Tossicità della soluzione di stricnina 0,004 °/₀ in brodo sterilizzato.

1. Iniezione in rana di 30 gr., di 0,010 gr. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000004 di solfato stricnico) per ogni grm. di peso. Nessun fenomeno.

2. Iniezione in rana di gr. 33, di 0,015 gr. di soluzione di stricnina (gr. 0,0000006 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Nessun fenomeno.

3. Iniezione in rana di grm. 20, di 0,028 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,00000112 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Nessun fenomeno.

4. Iniezione in rana di grm. 26, di 0,030 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,00000120 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Nessun fenomeno.

5. Iniezione in rana di grm. 32, di 0,031 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,00000124 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Nessun fenomeno.

6. Iniezione in rana di grm. 26, di 0,032 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,00000128 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Nessun fenomeno.

7. Iniezione in rana di grm. 33, di 0,035 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Tetano tipico debole dopo 55' dall'iniezione, per 2 ore e 15' all'eccitamento meccanico diretto ed indiretto.

La rana, messa in posizione supina, nello stesso intervallo di tempo, non è capace di rimettersi in posizione normale. Lo stato generale è buono. Già 15' dopo l'iniezione aveva presentato esagerata eccitabilità; questa si mantenne circa 3 ore dopo il tetano.

8. Iniezione in rana di grm. 33, di 0,040 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. L'eccitamento meccanico diretto e indiretto provoca dopo 45' tetano tipico debole per 2 ore. Messa in posizione supina, la rana già dopo 35' non si capovol-

ge; così rimane per 3 ore e 30'. Lo stato generale è buono, esageratamente eccittabile, 15' dopo l'iniezione; si mantenne tale per 2 ore dopo il tetano.

9. Iniezione in rana di grm. 39, di 0,040 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. L'eccitamento meccanico dopo 10' provoca tetano tipico, debole che dura un'ora e 30'. In questo intervallo di tempo la rana, capovolta, non si rimette da sè. Lo stato generale è buono. Già 5' dopo l' iniezione presenta esagerata eccitabilità, che dura circa 3 ore dopo il tetano.

10. Iniezione in rana di grm. 35, di 0,045 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000018 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. L'eccitamento meccanico provoca dopo 50' un tetano tipico forte che dura 1 ora e 25'. Già dopo 25' la rana, capovolta, è incapace di rimettersi in posizione normale. Lo stato generale è buono. L'esagerata eccitabilità comincia dopo 25', persiste per 4 ore dopo il tetano.

11. Iniezione in rana di grm. 30, di 0,050 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000020 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 10' si ha tetano debole, dopo 15' tetano forte per 2 ore e 20, per altre 2 ore si mantiene tetano debole. Capovolta, dopo 10' non si rimette; abbattimento non pronunziato.

12. Iniezione in rana di grm. 32, di 0,060 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000024 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 30' la rana è colpita da tetano fortissimo che dura 8 ore. Capovolta, non si rimette per 4 ore, durante le quali si presenta molto abbattuta.

13. Iniezione in rana di grm. 31, di 0,064 grm. di soluzione di stricnina (grm. 0,0000025 di sol-

fato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 5' si ha tetano molto forte, che dura tale per 9 ore; in questo tempo la rana, capovolta, non si rimette, anzi è colpita da tetano analogo, presentandosi in grave abbattimento.

II. *Tossicità della cultura del B. liquefaciens putridus in brodo contenente 0,004 °|o di stricnina.*

1ª serie.—Cultura del 15 giugno 95.—18 giugno 95.—Iniezione in rana di grm. 32, di 0,040 grm. di cultura in 3ª giornata (contenente grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 12' compare esagerata eccitabilità, dopo 55' tetano debole, dopo 2 ore tetano forte che persiste un'ora; per un'altr'ora persiste tetano debole, poi per 3 ore persiste l'esagerata eccitabilità. La rana dopo 55' era incapace, capovolta, di rimettersi in posizione normale, e questo durò 4 ore e 30' con grave abbattimento per 2 ore.

25 giugno.—Iniezione in rana di grm. 34, di 0,040 grm. di cultura in 10ª giornata (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 5' compare tetano debole, che dopo altri 5' si fa forte, e tale persiste per 2 ore e 45'; rimane debole per altre 4 ore. Capovolta dopo 10' era incapace di rimettersi; persistette così 2 ore e 45'. La rana fu molto abbattuta per 3 ore.

28 giugno. — Iniezione in rana di grm. 27, di 0,020 grm. di cultura in 10ª giornata (grammi 0,0000008 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 25' si ha esagerata eccitabilità, dopo un'ora tetano debole, dopo 1 ora e 10' tetano forte che durò 4 ore e 30' e resta debole per 4 ore. Dopo un'ora, la rana, capovolta, non si rimette; persiste così un'ora e 30': si presenta molto abbat-

tuta per 3 ore, esageratamente eccitabile ancora un'ora dopo il tetano.

29 giugno. — Iniezione in rana di grm. 22, di 0,020 grm. di cultura in 14ª giornata (grammi 0,0000008 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 45' la rana ha esagerata eccitabilità; dopo un'ora e 15' tetano debole che dura un'ora e 30', rimane esageratamente eccitabile per altre 3 ore circa. Dopo un'ora e 45' era incapace, capovolta, di rimettersi, e così rimase per un'ora e 30' mostrandosi per un'ora molto abbattuta.

30 giugno.—Iniezione in rana di grm. 22, di 0,025 grm. di cultura in 15ª giornata (grammi 0,0000010 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 35' la rana ha tetano debole che dura un'ora: in questo frattempo, capovolta, si rimette da sè per quanto si presenti abbattuta.

6 luglio.—Iniezione in rana di gr. 29, di 0,025 grm. di cultura in 21ª giornata (gr. 0,0000010 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo un'ora e 35' la rana ha esagerata eccitabilità che dura un'ora: in questo frattempo, capovolta, si rimette e si presenta per nulla abbattuta.

9 luglio.—Iniezione in rana di gr. 17, di 0,035 grm. di cultura in 24ª giornata (grm. 0,0000024 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana non offre fenomeni morbosi.

10 luglio.—Iniezione in rana di gr. 17, di 0,040 grm. di cultura in 25ª giornata (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana non presenta fenomeni morbosi.

18 luglio.—Iniezione in rana di gr. 26, di 0,045 gr. di cultura in 33ª giornata (gr. 0,0000018 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 45' si ha esagerata eccitabilità; dopo un'ora tetano debole che dura 50'; persiste un'altr'ora circa l'ec-

citabilità. La rana, capovolta, si rimette da sè per nulla abbattuta.

24 luglio.—Iniezione in rana di gr. 28, di 0,050 gr. di cultura in 39° giornata (gr. 0,0000020 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 15' si ha tetano debole, che dura 2 ore. La rana, capovolta, si rimette da sè; si presenta poco abbattuta.

5 agosto.—Iniezione in rana di gr. 23 di gr. 0,050 di cultura in 51ª giornata (gr. 0,0000020 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Non si provoca alcun fenomeno tetanico.

31 agosto.—Iniezione in rana di gr. 24, di 0,060 gr. di cultura in 77ª giornata (gr. 0,0000024 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 20' si ha tetano debole, che dura un'ora e 30'; la rana, capovolta, si rimette da sè; si presenta molto poco abbattuta.

2ª serie.—Cultura del 2 luglio 95; 7 luglio.—Iniezione in rana di gr. 37, di 0,020 gr. di nuova cultura di 5ª giornata, (gr. 0,0000008 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 30' ha esagerata eccitabilità che dura 2 ore; è un po' depressa.

8 luglio.—Iniezione in rana di gr. 20 di 0,030 gr. di cultura in 6ª giornata (gr. 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 35' ha esagerata eccitabilità, dopo un'ora tetano debole che dura un'ora e 35'; per altre 2 ore continua esagerata eccitabilità. Capovolta, dopo un'ora non è capace di rimettersi; è molto depressa.

18 luglio. — Iniezione in rana di gr. 26, di 0,040 gr. di cultura in 16ª giornata (gr. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 5' si ha tetano forte che dura 20'; la rana, capovolta, non si rimette e rimane in tale posizione molto abbattuta per 4 ore.

24 luglio.—Iniezione in rana di gr. 30, di 0,035 grm. di cultura in 22ª giornata (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 5' la rana presenta forte tetano che dura 2 ore e 20'; per 3 ore è incapace, rovesciata, di rimettersi a posto, ed è molto abbattuta.

5 agosto.—Iniezione in rana di gr. 30, di 0,035 grm. di cultura in 34ª giornata (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 38' la rana presenta tetano forte che dura 3 ore e continua debole per altre 4; arrovesciata, non è capace di rimettersi a posto per 3 ore e si presenta molto depressa.

31 agosto. — Iniezione in rana di grm. 26, di 0,035 grm. di cultura in 60ª giornata (grammi 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 20' si ha tetano forte che dura 2 ore e 30'; segue per altrettanto tempo tetano debole; arrovesciata, non è capace di rimettersi a posto per 3 ore ed in questo frattempo è molto abbattuta.

Tossicità della cultura del B. subtilis in brodo contenente 0,004 °/₀ di stricnina.

1ª serie.—Cultura del 15 giugno 95. — 18 luglio 95.— Iniezione di 0,040 grm. di cultura in 3ª giornata (grm. 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso di rana, di grm. 22. Dopo 15' la rana presenta esagerata eccitabilità; dopo 50' dall'iniezione, tetano debole, dopo un'ora e 20' tetano forte, che dura un'ora, poi ancora per un'altra ora tetano debole. La rana dopo un'ora e mezza, capovolta, era capace di rimettersi in posizione normale e rimase in tale stato per 2 ore, molto depressa.

26 giugno.—Iniezione in rana di grm.34,di 0,040 grm. di cultura in 10ª giornata (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La

rana, dopo 5' fu colpita da tetano grave che durò 5 ore e 50; per 5 ore fu incapace, capovolta, di rimettersi in posizione normale e si presenta grandemente abbattuta.

28 giugno.—Iniezione in rana di grm. 31, di 0,020 grm. di cultura in 13ª giornata (grammi 0,0000008 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana non presenta fenomeni morbosi.

29 giugno.—Iniezione in rana di grm. 22, di 0,030 grm. di cultura in 14ª giornata (grammi 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana, dopo 50' presenta esagerata eccitabilità, dopo 1 ora e 15' tetano debole, che dura 50', e segue poi per 2 ore esagerata eccitabilità. In questo frattempo la rana, capovolta, è incapace di rimettersi; è depressa.

6 luglio.—Iniezione in rana di grm. 18, di 0,025 grm. di cultura in 21ª giornata (grm. 0,0000010 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana presenta dopo 35' esagerata eccitabilità che persiste per un'ora e 35'.

9 luglio.—Iniezione in rana di grm. 35, di 0,035 grm. di cultura in 24ª giornata (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana presenta dopo 15' tetano debole, dopo 20' tetano forte che dura 3 ore e 20', segue poi tetano debole per 4 ore. Per 3 ore la rana, capovolta, non fu capace di rimettersi ed era molto depressa.

18 luglio. — Iniezione in rana di grm. 28, di 0,050 grm. di cultura in 31ª giornata (grammi 0,0000020 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. La rana dopo 50' ebbe tetano debole che durò 9 ore. Per 40' è incapace, capovolta, di rimettersi a posto. Non presentava sintomi di abbattimento. Ebbe esagerata eccitabilità per 3 ore.

24 luglio.—Iniezione in rana di gr. 18, di 0,050

grm. di cultura in 39ª giornata (grm. 0,0000020 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 50' la rana presentò esagerata eccitabilità; dopo 55', tetano debole che durò 1 ora e 20', diventava forte durante altri 50' e continuando per 1 ora debole, ne seguiva per un'ora esagerata eccitabilità. Per un'ora la rana fu, capovolta, incapace di rimettersi e si mostrò discretamente depressa.

5 agosto.—Iniezione in rana di gr. 23, di 0,050 grm. di cultura in 51ª giornata. Nessun fenomeno.

31 agosto. — Iniezione in rana di grm. 24 di 0,060 grm. di cultura in 77ª giornata (grammi 0,0000024 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 40' si ha tetano debole, che continua per un' ora. La rana si rimette da sè quando è capovolta.

2ª serie. (Cultura del 2 luglio 95).—7 luglio 95. Iniezione in rana di grm. 36, di 0,020 grm. di nuova cultura in 5ª giornata (grm. 0,0000008 di solfato di stricnina) per ogni grm. di peso. Dopo 30' comparve tetano debole, dopo 40' tetano forte che durò 2 ore e 30' e continuò debole per 5 ore. In questo tempo la rana era incapace di rimettersi a posto, se capovolta ; era molto depressa.

8 luglio.—Iniezione in rana di gr. 20, di 0,015 grm. di cultura in 6ª giornata (grm. 0,0000006 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 55' comparve esagerata eccitabilità che durò 40'. La rana era in condizione normale.

18 luglio. — Iniezione in rana di grm. 20, di 0,030 grm. di cultura in 16ª giornata (grammi 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 5' comparve tetano forte che durò 50'. La rana per 4 ore fu incapace, capovolta, di rimettersi, e si presentò molto abbattuta.

24 luglio.—Iniezione in rana di gr. 18, di 0,030

grm. di cultura in 22ª giornata (grm. 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 35' esagerata eccitabilità, dopo 45' tetano forte che durò 3 ore; seguì poi per un'ora tetano debole. Per 3 ore la rana, capovolta, fu incapace di rimettersi e si mostrò sempre molto abbattuta.

5 agosto.—Iniezione in rana di gr. 35, di 0,035 grm. di cultura in 54ª giornata (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 15' si ha tetano leggero, dopo 40' tetano forte che dura 3 ore e 30': durante tutto questo tempo la rana è incapace, capovolta, di rimettersi, ed è molto abbattuta.

31 agosto.—Iniezione in rana di gr. 22, di 0,035 grm. di cultura in 60ª giornata (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. Dopo 40' si ha tetano forte che dura 9 ore: la rana sempre incapace, capovolta, di rimettersi, rimase molto abbattuta.

IV. *Tossicità della cultura del B. mesentericus vulgatus, in brodo, contenente p. 0,004 °/₀ di stricnina.*

1ª serie. — Cultura del 15 giugno 95; 18 giugno 95. Iniezione in rana di gr. 28 di 0,040 gr. di cultura in 3ª giornata (gr. 0,0000012 di solfato stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 35' presenta esagerata eccitabilità, dopo 55' tetano forte che dura 2 ore e mezza; conserva l'esagerata eccitabilità per 5 ore. In tutto questo tempo la rana non è capace, capovolta, di rimettersi, e per 1 ora è presa da grave abbattimento.

25 giugno.—Iniezione in rana di gr. 35, di cultura in 10ª giornata (gr. 0,0000015 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 10' presenta tetano forte che dura 6 ore. Per 7 ore è

incapace, capovolta, di rimettersi. Per 4 ore presenta sintomi di grave depressione.

28 giugno. — Iniezione in rana di gr. 30 di 0,020 gr. di cultura in 10ª giornata, (gr. 0,000008 di solfato stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 5' presenta tetano forte che dura 3 ore, seguito da tetano debole che dura 5 ore. Per 2 ore la rana fu incapace, arrovesciata, di rimettersi a posto, presentando sintomi di grave depressione.

6 luglio.—Iniezione in rana di gr. 27, di 0,020 gr. di cultura in 13ª giornata (gr. 0,0000008 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 35' ha esagerata eccitabilità, dopo 55' presenta tetano debole, dopo un'ora e 15' tetano forte, che dura un'ora e 40' seguìto da tetano debole per un'ora, e da esagerata eccitabilità per 4 ore. Capovolta, la rana si rimette da sè, ma per 2 ore si presenta molto abbattuta.

9 luglio.—Iniezione in rana di gr. 31, di 0,025 gr. di cultura in 21ª giornata (gr. 0,0000010 di solfato di stricnina), per ogni gr. di peso.

10 luglio.—Iniezione in rana di gr. 19 di gr. 0,035 di cultura in 24ª giornata (gr. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 30' presenta tetano debole, dopo 35' tetano forte che dura 3 ore e 20', seguìto per 4 ore da tetano, debole. Per 3 ore 40' la rana, capovolta, non è capace di rimettersi a posto, e per 2 ore si mantiene molto depressa.

11 luglio.—Iniezione in rana di gr. 19, di 0,035 gr. di cultura in 24ª giornata (gr. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 35' presenta esagerata eccitabilità, dopo 1 ora tetano debole per 30', per 2 ore e 40' conserva esagerata eccitabilità. Per 3 ore e 40', rovesciata, non è

capace di rimettersi a posto, e per 2 ore si presenta depressa.

18 luglio. — Iniezione in rana di gr. 24, di 0,045 gr. di cultura in 31ª giornata (gr. 0,0000018 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 15' presenta esagerata eccitabilità, dopo 1 ora e 15' tetano debole per 30', per un' ora e mezza ancora esagerata eccitabilità. La rana dopo 50' dall'iniezione non poteva rimettersi a posto, se capovolta; questo sintoma durò solo 15'. Non offrì sintomi di depressione spiccata.

24 luglio.—Iniezione in rana di gr. 18, di 0,050 gr. di cultura in 39ª giornata (gr. 0,0000020 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 10' presenta esagerata eccitabilità, dopo 45' tetano forte che dura un'ora; durante questo tempo, capovolta, non si rimette da sè in posizione normale. Non ha sintomi di depressione.

31 agosto. — Iniezione in rana di gr. 22, di 0,060 gr. di cultura in 77ª giornata (gr. 0,0000024 di solfato di stricnina) per ogni gr. di rana. Dopo 40' si ha tetano leggero, dopo un'ora tetano forte che dura 2 ore; segue tetano debole per un' ora e 30'. Per 2 ore e 30' la rana, capovolta, non si rimette in sito. È leggermente abbattuta.

2ª serie.—Cultura del 2 giugno 95; 7 giugno 95. Iniezione in rana di gr. 37, di 0,020 gr. di cultura in 5ª giornata (gr. 0,000008 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 40' offre esagerata eccitabilità, dopo 1 ora e 15' tetano debole, dopo un'ora e 30' tetano forte per un'ora: in questo frattempo, capovolta, non è capace di rimettersi in posizione normale, ed è molta depressa.

8 luglio.—Iniezione in rana di gr. 18, di 0,030 gr. di cultura in 6ª giornata (gr. 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 40'

presenta esagerata eccitabilità, dopo 40' tetano debole, che dura 55'. Non altro.

9 luglio.—Iniezione in rana di gr. 0,35, di 0,040 gr. di cultura in 7ª giornata (gr. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana dopo 20' presenta tetano debole, dopo un'ora e 5' tetano forte che dura 2 ore; segue tetano debole per 3 ore e 30'. La rana per 5 ore, capovolta, è incapace di rimettersi, e per 3 ore si presenta depressa.

18 luglio. — Iniezione in rana di gr. 20, di 0,040 gr. di cultura in 16ª giornata (gr. 0,0000016 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana, dopo 5' presenta tetano debole, dopo un'ora tetano forte per 2 ore, segue tetano debole ancora per 3 ore e 20'. Per 6 ore la rana, capovolta, è incapace di rimettersi in posizione normale; si mantiene molto depressa.

24 luglio. — Iniezione in rana di gr. 28, di 0,035 gr. di cultura in 22ª giornata (gr. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di peso. La rana ha dopo 5' tetano debole, dopo 10' tetano forte che dura 3 ore e 20'; per 4 ore e 30' continua il tetano debole. Per 5 ore rimane depressa; non si capovolge.

5 agosto.—Iniezione in rana di gr. 26, di 0,035 gr. di cultura in 34ª giornata (gr. 0,0000014 di solfato di stricnina), ogni gr. di peso. La rana dopo 30' ha esagerata eccitabilità, dopo un' ora e 40' tetano forte per 30' segue tetano debole per 2 ore. Capovolta per un' ora non è capace di rimettersi. Non ha sintomi di depressione.

5 agosto.—Iniezione in rana di gr. 24, di 0,035 gr. di cultura in 34ª giornata (gr. 0,000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di rana. Dopo 1 ora si ha tetano leggero, dopo 1 ora e 40' tetano forte che dura 1 ora e 30'; segue per un'altra ora

tetano leggero. La rana dopo 1 ora è incapace, capovolta, di rimettersi.

31 agosto. — Iniezione in rana di gr. 22, di 0,035 gr. di cultura in 60ª giornata (gr. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni gr. di rana. Dopo 20' si ha tetano leggero, dopo 40' tetano forte che durò 2 ore; seguì per circa altre due ore un tetano leggero; la rana durante il tetano forte era incapace di rimettersi, se capovolta; era depressa.

III.

Dalle esperienze fatte con la soluzione 0,004 per 100 di solfato di stricnina in brodo sterilizzato, si deduce che a seconda delle dosi iniettate potevansi provocare nella rana 4 gradi di avvelenamento.

1º grado. — Con grm. 0,035 di soluzione per ogni grm. di peso dell'animale (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) ottenevo un tetano tipico, ma debole, che durava 1 ora e mezza.

2º grado.—Con grm. 0,045 di soluzione (grm. 0,0000010 di solfato di stricnina) per ogni grm. di rana ottenevo tetano forte che durava un'ora e mezza.

3º grado.—Con grm. 0,050 di soluzione per ogni grm. di rana (grm. 0,0000020 di solfato di stricnina) ottenevo tetano forte che durava circa 3 ore.

4º grado. — Con grm. 0,060 di soluzione per ogni grm. di rana (grm. 0,0000024 di solfato di stricnina) ebbi tetano fortissimo che durava circa 9 ore.

Partendo da questi dati, vediamo come si presentò la tossicità della stricnina sciolta nelle culture batteriche nelle due serie di esperienze cominciate rispettivamente il 15 giugno e il 2 luglio scorso.

1ª serie. *B. liquefaciens putridus.*—La cultura in brodo con stricnina (0,004 °[o) cominciò fin dal 3° giorno ad aumentare la tossicità, producendo già alla dose di 0,040 per ogni grm. di rana (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) il tetano di 2° grado; al 10° giorno aumentò tanto la tossicità, che già alla dose di 0,020 per ogni grm. di rana (grm. 0,0000008 di solfato di stricnina) provocò un tetano di 3° grado che durò un' ora e mezza; l'azione era quindi quasi triplicata (occorrendo nel brodo semplice, senza stricnina, l'iniezione di grm. 0,035 di cultura per provocare tetano leggero di 1° grado); al 14° giorno con la dose di grm. 0,020 si ottenne tetano di 1° grado; lo stesso si ebbe al 21° giorno con grm. 0,025. Al 24° giorno si notò invece che la tossicità era diventata minore di quella con brodo sterilizzato: grm. 0,035 e grm. 0,040 non provocarono più tetano; il 33° giorno grm. 0,045 provocò solo un tetano di 1° grado; al 38° giorno infine occorrevano grm. 0,050 (grm. 0,0000020 di solfato di stricnina) per produrre un tetano non più forte; al 51° giorno la stessa dose non provoca più il tetano, al 77° giorno, occorre, per produrre tetano di 1° grado, l'iniezione di grm. 0,060 (grm. 0,0000024 di solfato di stricnina) di cultura per ogni grm. di rana.

Dunque l'aumento della tossicità durò dal 3° al 20° giorno, dopo diminuì perdendo al 30° giorno già quasi la metà dell'azione ordinaria; al 77° la tossicità è minore ancora della metà.

B. subtilis.—La cultura nella solita soluzione di stricnina in brodo (0,040 °[o) cominciò anche essa ad aumentare la tossicità leggermente al 3° giorno; più spiccata si notò l' azione al 10° giorno in cui grm. 0,040 provocarono tetano di

3° grado, più ancora al 14° giorno in cui grm. 0,030 (grm. 0,0000012 di solfato di stricnina), incapace in brodo sano di dar tetano, provocò tetano di 1° grado; aumentò ancora al 24° giorno in cui grm. 0,035 (grm. 0,0000014) provocarono tetano di 3° grado.

Al 25° giorno l'azione tossica cominciò a diminuire; al 31° giorno grm. 0,050 non provocarono più che fenomeni tetanici di 1° grado; al 51° giorno la stessa dose non provocava più tetano, al 77° giorno per aver tetano di primo grado si dovette iniettare grm. 0,060 di cultura.

Prima dunque, tra il 3° ed il 24° giorno la tossicità aumentò quasi del triplo con un acme al 24°, in seguito diminuì in pochi giorni almeno della metà; dopo i 70 giorni è già ridotta a $^1/_3$.

B. mesentericus vulgatus. — La cultura al 3° giorno presentò già leggero aumento di tossicità; al 10° aumentò tanto, che grm. 0,040 di cultura (grm. 0,0000016 di solfato di stricnina) diedero avvelenamento di 4° grado, (dato ordinariamente da gr. 0,0000024 di stricnina) e grm. 0,020 provocarono intossicazione di 3° grado; al 13° giorno questa stessa dose dà tetano di 1° grado, al 26° giorno grm. 0,035 dànno tetano di 2° grado, al 33° giorno la tossicità diminuisce: grm. 0,045 di cultura (grm. 0,0000018 di solfato di stricnina) dànno solo avvelenamento di 1° grado; più ancora diminuisce al 39° giorno in cui gr. 0,050 non provocano che tetano di 1° grado; al 77° giorno grm. 0,060 provocarono tetano di 2° grado.

Si ebbe dunque un aumento dell'azione dal 3° al 32° giorno, con un acme al 10° giorno, in cui si ebbe azione quadruplicata; poi una diminuzione che al 39° giorno aveva già ridotto l'azione alla metà, e tale si continua al 77° giorno.

2ª serie. — Il 2 luglio scorso, incominciai una nuova serie di osservazioni, facendo nuove culture in brodo con stricnina al 0,004 °/₀ dei medesimi microrganismi.

Sono trascorsi solo sessanta giorni: interessa riassumere qui i risultati che si ebbero sinora.

1. *B. Liquefaciens putridus.*—La cultura di questo microrganismo al 6° giorno in dose di grm. 0,030 (grm. 0,0000012 di solfato di stricnina) per ogni grm. di rana, provoca già il tetano di 1° grado; in 10ª giornata grm. 0,040 di cultura (grammi 0,0000016 di solfato di stricnina) provocano intossicazione di 2° grado; in 22ª giornata grm. 0,035 (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) provocano tetano di 3° grado dopo 5 minuti; in 34° giornata la dose di grm. 0,035 provoca lo stesso tetano; lo stesso si ha ancora al 60° giorno. Abbiamo dunque una tossicità triplicata.

2. *B. subtilis.* — In 6ª giornata la cultura di questo batterio in brodo con stricnina, già alla dose di gr. 0,020 per grm. di peso d'animale (grm. 0,0000008 di solfato di stricnina) produce avvelenamento di 3° grado. Nel 16° giorno grm. 0,030 di cultura (grm. 0,0000012 di solfato di stricnina) per grm. di rana, dà un tetano di 2° grado. Il 22° giorno la stessa quantità dà tetano di 3° grado; al 34° giorno la dose di grm. 0,035 di cultura provoca ancora tetano grave di 3° grado: lo stesso risultato si ottiene ancora al 60° giorno.

Abbiamo dunque una tossicità triplicata che ancora accenna a continuare.

3. *B. mesentericus vulgatus.*—In 6ª giornata alla dose minima di 0,020 per grm. di rana, di culture (grm. 0,000008 di solfato di stricnina) si ha già il tetano di 1° grado; al 7° giorno, alla dose di gr. 0,040 per ogni grm. di rana (grm. 0,0000016 di solfato

di stricnina) la rana ebbe tetano di 3° grado; in 16ª giornata, grm. 0,040 di cultura per ogni grm. di rana diede avvelenamento di 1° grado; in 22ª giornata, grm. 0,035 di cultura (grm. 0,0000014 di solfato di stricnina) per ogni grm. di rana, diede tetano di 3° grado; in 34ª giornata l' iniezione della stessa quantità provocò solo un tetano di 2° grado; in ogni modo l'azione si conserva maggiore del normale; lo stesso reperto si ebbe ancora in 60ª giornata.

L'aumento della tossicità adunque, anche in questa 2ª serie è evidente, e l'azione triplicata, accenna a continuare ancora più a lungo che negli esperimenti della 1ª serie.

Per tutti questi microrganismi come nella 1ª serie di osservazioni nel periodo di aumento di tossicità si ebbero fenomeni di grave abbattimento dell'animale.

—

Considerando la grande diffusione del *B. coli*, la frequenza con cui lo si trova nei cadaveri (Wurtz e Herman, Dallemagne, Achard e Phulphin, Brotzu, ecc.) e la parte che deve esso pure avere coi comuni saprofiti nel processo della putrefazione, ho fatto studiare nel mio laboratorio dall'aiuto dott. Rossi (1) l'azione del b. coli, in analoghe soluzioni in brodo di stricnina. 0,004 %.

Anch'egli in accurate e ripetute osservazioni verificava nei primi tempi, sin dal 5° giorno, aumento della tossicità circa del triplo, dal 30° giorno azione minore del normale: questa diminuzio-

---

(1) V. Rossi.—Azione del b. coli sulla tossicitá della stricnina e dell'atropina. (Proc. verb. della R. Accademia Fisio-critici in Siena—Adunanza del 29 giugno 1895).

ne procede lenta per due mesi; al 3° mese raggiunge la metà, al 4° il terzo dell'azione ordinaria.

L'aumento di tossicità corrisponde a quello che io ottenni coi saprofiti, anzi fu più pronta e più sensibile, la diminuzione meno rapida: ciò si spiega pel fatto che l'innesto del b. coli fu fatto su 100 cc. di brodo anzicchè su 50.

Conclusioni.—Da queste osservazioni che ora sto continuando risultano già evidenti ed importanti conclusioni che io posso sin d'ora comunicare.

1. Nei primi giorni le culture di saprofiti in brodo avvelenato con stricnina, dimostrano un aumento forte della tossicità dell' alcaloide.

Questo aumento che giunge sino a triplicare l'azione del veleno dura da un mese a due.

2. In seguito la tossicità al 34° giorno può già essere diminuita della metà; dopo due mesi può essere ridotta ad un terzo.

Credo più importante e nuovo il riscontrato aumento, di tossicità. Come si può spiegare?

Nuove sostanze tetaniche non possono essersi prodotte nè per parte dei veleni eliminati dai batterî, nè pei cadaveri dei medesimi, nè per le sostanze albuminoidi del mezzo di cultura disorganizzato, perchè le culture pure senza stricnina diedero fenomeni opposti.

Giova quì ricordare che Ogier e Minovici (1) e molti altri, constatarono nei cadaveri un aumento di produzione di alcaloidi cadaverici nei primi giorni tra il 10° ed 20° giorno. Paternò e Spica (2) Bocklisch, Brieger, osservarono fenomeni analoghi.

---

(1) Vedi Le laboratoir de Toxicologie par Brouardel e Ogier (Paris 1891 pag. 145).

(2) Paternò e Spica.—(« Gazz. chim. ital. » t. XII,

Bordoni-Uffreduzzi ed io (1) trovammo molto più tossico l'estratto di cultura giovine del *mesentericus vulgatus* in polenta che quello di culture vecchie.

Questo dimostra a sufficienza che la produzione delle tossine è massima nei primi giorni di cultura.

Queste nuove sostanze velenose, di fresca preparazione influenzarono forse sulla stricnina aumentandone la tossicità. Come avvenne ciò?

L' intossicazione stricnica si differenzia dalla ordinaria, facendosi più grave, anche a dosi minime, agendo molto rapidamente, mostrando l'animale molto più abbattuto, anche dopo cessati i fenomeni stricnici.

Io ritengo che i batterî e le tossine prodottesi nella cultura nei primi giorni, ebbero l' effetto, iniettati nel tempo di loro freschezza, di abbattere l'animale, renderlo insomma più sensibile all'azione della stricnina, donde un apparente aumento della tossicità di questo alcaloide.

Questo fatto proveniente dall' associazione dei batterî e degli alcaloidi, ci ricorda per analogia gli effetti delle associazioni dei batterî (2) che unendosi possono moltiplicare la propria azione, e ci spiega poi quei fenomeni che si dicono di idiosincrasia perchè non si sanno in altro modo spiegare, come analogamente affermava il Murri

---

pag. 63).—Bocklisch («Deutsch. Chemisch. Gesellschaft» t. XVIII p. 85). — Brieger («Deutsch. Chemisch. Gesellschaft» t. XVI).

(1) Bordoni-Uffreduzzi e Ottolenghi.—Del cosidetto b. maidis e sull'azione tossica della polenta da esso alterata («Giorn. R. Acc. Med. di Torino» 1890).

(2) Galtier.— Associations bacteriennes. Exaltation de Virulence. («Accad. des Sciences», 30 aprile 1894).

nel suo caso di intossicazione chinica da dieci centigrammi di questo farmaco, in una donna prima affetta da infezione malarica (1).

Questo effetto, dell'associazione di alcaloidi con batterî, è molto importante per la medicina legale, sia per il criterio fisiologico nelle autopsie, sia per lo stesso criterio clinico sintomatico in casi di avvelenamenti criminosi o accidentali. Non ponendo mente a questo fatto potrebbesi erroneamente ritenere maggiore la quantità del veleno introdotta nell'organismo, sia per i sintomi provocati nel malato per la presenza di infezioni latenti o no, sia per l'azione tossica degli estratti dei cadaveri.

Non meno interessante è la osservata diminuzione di tossicità della stricnina che constatai altrettanto evidente per l'atropina (citaz. p. 1).

Questa minore azione, o diremo meglio attenuazione, dell'alcaloide stricnico, esprime proprio una scomposizione avvenuta nella stricnina?

Potrebbe darsi che il veleno non fosse stato consumato, ma che per effetto dell' associazione con altre tossine sviluppatesi nel liquido di cultura fosse ostacolata o neutralizzata l' azione di una parte del veleno.

Il non essersi però constatato nelle rane in questo periodo, con lo indebolimento dei fenomeni tetanici, altri fenomeni morbosi che potessero riferirsi ad altre intossicazioni batteriche mi fa credere che realmente parte del veleno fosse consumato o almeno scomposto.

---

(1) Murri.—Sull'intossicazione da chinina (« Il Policlinico », 15 luglio 1895).

Del resto si tratti di vero consumo o di neutralizzazione del veleno o di alterazione ignota molecolare che ne altera l'azione, per la pratica medico-legale è tutt'uno. Ne risulta un' attenuazione dell'alcaloide non senza importanza.

E se poniamo mente a ciò che in generale grammi 0,050 di cultura di saprofiti (contenenti grammi 0,0000020 di solfato di stricnina), avevano negli ultimi giorni un effetto analogo a quello di grammi 0,035 di brodo contenente grm. 0,0000014 di stricnina, possiamo ritenere che 1 cc. di cultura che contiene originariamente grm. 0,0000040 di stricnina avrà perduto gr. 0,0000012 di stricnina, consumo, crediamo, abbastanza notevole, considerato il breve tempo decorso e il genere dell'alcaloide studiato. Vedremo, continuando queste esperienze, se e fino a qual punto continuerà il consumo dell'alcaloide. In questo giorno (31 agosto) continua ancora a diminuire la tossicità della stricnina.

Intanto la notevole diminuzione dell' azione della stricnina, che è l' alcaloide più resistente alla putrefazione, subìta in un tempo relativamente breve sotto l'azione di un solo microrganismo, è abbastanza dimostrativa e contro quanto era stato da altri autori sostenuto ci fa ritenere che i saprofiti esercitino un'azione tutt'altro che indifferente sugli alcaloidi che possono trovarsi nel cadavere.

Sia l'aumentata azione della stricnina da me constatata nei primi tempi delle culture avvelenate, sia l'attenuazione verificata dopo, hanno così evidenti applicazioni nelle questioni di tossicologia forense che ritengo che queste mie osservazioni che sto continuando possono tornare

utili in medicina legale per stabilire quei criterî generali necessari per giustamente valutare, nei casi concreti, l'azione che i batterî possono esercitare sugli alcaloidi nel cadavere e nell' organismo vivente.

Siena 31 agosto 1895.